

DOCKET NO.: 270434US0PCT

**IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE**

IN RE APPLICATION OF: Naoyuki MORIYA, et al.

SERIAL NO.: NEW U.S. PCT APPLICATION

FILED: HEREWITH

INTERNATIONAL APPLICATION NO.: PCT/JP04/02780

INTERNATIONAL FILING DATE: March 4, 2004

FOR: COMPOSITION CONTAINING BETA-GLUCAN AND CONSTIPATION-RELIEVING  
DRUG, IMMUNOPOTENTIATOR, AND SKIN MOISTENING AGENT USING THE  
COMPOSITION**REQUEST FOR PRIORITY UNDER 35 U.S.C. 119  
AND THE INTERNATIONAL CONVENTION**Commissioner for Patents  
Alexandria, Virginia 22313

Sir:

In the matter of the above-identified application for patent, notice is hereby given that  
the applicant claims as priority:

| <b><u>COUNTRY</u></b> | <b><u>APPLICATION NO</u></b> | <b><u>DAY/MONTH/YEAR</u></b> |
|-----------------------|------------------------------|------------------------------|
| Japan                 | 2003-061382                  | 07 March 2003                |
| Japan                 | 2003-061379                  | 07 March 2003                |
| Japan                 | 2004-028965                  | 05 February 2004             |

Certified copies of the corresponding Convention application(s) were submitted to the  
International Bureau in PCT Application No. PCT/JP04/02780. Receipt of the certified  
copy(s) by the International Bureau in a timely manner under PCT Rule 17.1(a) has been  
acknowledged as evidenced by the attached PCT/IB/304.

Respectfully submitted,  
OBLON, SPIVAK, McCLELLAND,  
MAIER & NEUSTADT, P.C.



Norman F. Oblon  
Attorney of Record  
Registration No. 24,618  
Surinder Sachar  
Registration No. 34,423  
Corwin P. Umbach, Ph.D.  
Registration No. 40,211

Customer Number

**22850**

(703) 413-3000  
Fax No. (703) 413-2220  
(OSMMN 08/03)

Rec'd PCT/PTO 15 APR 2005

PCT/JP 2004/002780

10/531463

04. 3. 2004

日本国特許庁  
JAPAN PATENT OFFICE

REC'D 22 APR 2004

WIPO

PCT

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日  
Date of Application: 2003年 3月 7日

出願番号  
Application Number: 特願2003-061382  
[ST. 10/C]: [JP 2003-061382]

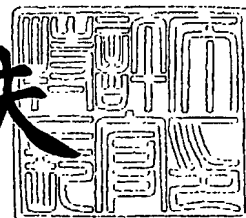
出願人  
Applicant(s): 株式会社アウレオ

PRIORITY DOCUMENT  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH  
RULE 17.1(a) OR (b)

2004年 4月 8日

特許庁長官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

今井康夫



出証番号 出証特2004-3028813

【書類名】 特許願

【整理番号】 MP-1612

【提出日】 平成15年 3月 7日

【あて先】 特許庁長官 太田 信一郎 殿

【発明者】

【住所又は居所】 東京都港区白金台2丁目7番地7号 株式会社アウレオ  
内

【氏名】 守屋 直幸

【発明者】

【住所又は居所】 東京都港区白金台2丁目7番地7号 株式会社アウレオ  
内

【氏名】 守屋 ▲祐▼生子

【発明者】

【住所又は居所】 東京都港区白金台2丁目7番地7号 株式会社アウレオ  
内

【氏名】 鈴木 健司

【特許出願人】

【住所又は居所】 東京都港区白金台2丁目7番地7号

【氏名又は名称】 株式会社アウレオ

【代理人】

【識別番号】 100086689

【弁理士】

【氏名又は名称】 松井 茂

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 002071

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

|           |       |
|-----------|-------|
| 【物件名】     | 要約書 1 |
| 【プルーフの要否】 | 要     |

【書類名】 明細書

【発明の名称】 皮膚用保湿剤

【特許請求の範囲】

【請求項 1】  $\beta$ -グルカンを含む素材と、乳酸菌の加熱処理菌体とを有効成分として含むことを特徴とする皮膚用保湿剤。

【請求項 2】 前記  $\beta$ -グルカンは  $\beta$ -1, 3-1, 6-グルカンである、請求項 1 に記載の皮膚用保湿剤。

【請求項 3】 固形分中に、前記  $\beta$ -グルカンを含む素材を  $\beta$ -グルカン換算で 1～40 質量% 含有し、かつ前記乳酸菌の加熱処理菌体を 4～95 質量% 含有する、請求項 1 又は 2 に記載の皮膚用保湿剤。

【請求項 4】 前記  $\beta$ -グルカンを含む素材は、アウレオバシジウム属 (Aureobasidium sp.) に属する菌、担子菌の子実体、担子菌の菌糸体から選ばれた少なくとも 1 種より調製されたものである、請求項 1～3 のいずれか一つに記載の皮膚用保湿剤。

【請求項 5】 前記  $\beta$ -グルカンを含む素材は、アウレオバシジウム プルランス M-1 (Aureobasidium pullulans M-1) (FERM P-19213) を培養して得られる培養物である、請求項 1～4 のいずれか一つに記載の皮膚用保湿剤。

【請求項 6】 前記乳酸菌はエンテロコッカス・フェカリス (Enterococcus faecalis) である、請求項 1～5 のいずれか一つに記載の皮膚用保湿剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、 $\beta$ -グルカン、特に  $\beta$ -1, 3-1, 6-グルカンを含む素材と乳酸菌の加熱処理菌体とを有効成分として含む皮膚用保湿剤に関する。

【0002】

【従来の技術】

皮膚は、表皮、真皮、皮下組織の 3 層からなり、表皮は更に角質層、顆粒層、有棘層、基底層の 4 層からなっている。そして、基底層で生まれた皮膚細胞は、徐々に皮膚の表面へ移行し、最終的にアカとなってはがれ落ちる。また、排泄さ

れた汗や皮脂が皮膚の表面で皮脂膜を作り、皮膚を紫外線等の対外刺激からガードするバリアの役目を果たしている。

#### 【0003】

健康な肌はしっとり潤った状態となっているが、これは、皮脂膜と角質層が一体となって対外刺激から肌を守り、角質層の水分を維持しているためである。

#### 【0004】

しかし、湿度・気温の低下、紫外線、冷暖房による影響、新陳代謝機能の低下等の様々な原因により、皮膚細胞の生まれ変わりのリズムが狂ったり、十分な皮脂膜が形成されないと、肌に必要な水分が保てなくなり、カサついたり、肌荒れが起こるようになる。

#### 【0005】

そのため、皮膚表面の水分を調節して肌の乾燥を防ぐために様々な保湿剤が提案されている。従来、保湿成分としては、例えば、グリセリン、プロピレングリコール、1, 3-ブチレングリコール、その他の多価アルコールをはじめ、油脂成分、アミノ酸、蛋白質、多糖類、ムコ多糖類等が利用されているが、中でも $\beta$ -グルカンを使用したものとして、例えば、下記特許文献1には、結合様式 $\beta$ -1, 3-1, 6-グルカンを含む化粧料等の添加剤が開示されている。そして、 $\beta$ -1, 3-1, 6-グルカンの水溶液にして、そのまま皮膚や毛髪に塗布すると、従来の化粧料、整髪料、軟膏添加材に比べて皮膚や毛髪面の皮膜形成性、保湿性が優れていることが記載されている。

#### 【0006】

また、下記特許文献2には、微生物により生産される少なくとも1種の細胞外ホモ多糖、又は該細胞外ホモ多糖と少なくとも1種のアミノ酸とを含むことを特徴とする入浴剤が開示されている。そして、前記細胞外ホモ多糖の構成糖が $\beta$ -D-グルコースであること、前記 $\beta$ -D-グルコースが、オーレオバシジウム属に属する微生物により生産される $\beta$ -1, 3-1, 6-グルカンであることが記載されている。

#### 【0007】

また、下記特許文献3には、 $\beta$ -1, 3-1, 6-グルカン及びリンゴ抽出物

を含有する組成物からなる皮膚塗布剤が開示されている。

【0008】

【特許文献1】

特開昭62-205008号公報

【特許文献2】

特開平10-310515号公報

【特許文献3】

特開2002-335926号公報

【0009】

【発明が解決しようとする課題】

しかしながら、化学合成の保湿成分は特に安全性の点で不安があるため、その使用は好ましいものとは言えない。また、天然物由来の保湿成分は、保湿効果の持続性や使用感等の点で十分満足できるものではなかった。

【0010】

例えば、上記特許文献1、2に記載されているように、 $\beta$ -1, 3-1, 6-グルカンを単独で用いた場合、一時的な保湿効果は得られるものの、その効果は長続きしなかった。

【0011】

また、上記特許文献3に記載されているように、 $\beta$ -1, 3-1, 6-グルカンと馬油を併用した場合は、べたつきを生じたり油っぽくなるなど、使用感があまりよくなかった。

【0012】

したがって、本発明の目的は、保湿効果の持続性や使用感に優れ、かつ安全性の高い皮膚用保湿剤を提供することにある。

【0013】

【課題を解決するための手段】

上記目的を達成するため、本発明の皮膚用保湿剤は、 $\beta$ -グルカンを含有する素材と、乳酸菌の加熱処理菌体とを有効成分として含有することを特徴とする。

【0014】

本発明によれば、 $\beta$ -グルカンを含有する素材と、乳酸菌の加熱処理菌体とを含むので、これらの成分の相乗効果により、保湿効果の持続性や使用感に優れた皮膚用保湿剤を提供できる。また、上記各成分は飲食品等に利用されている天然物由来の成分であるため安全性も高い。

#### 【0015】

本発明においては、前記 $\beta$ -グルカンは $\beta$ -1, 3-1, 6-グルカンであることが好ましい。この態様によれば、保湿効果だけでなく、アトピー性皮膚炎等のアレルギー症状の低減効果も期待できる。

#### 【0016】

また、固形分中に、前記 $\beta$ -グルカンを含有する素材を $\beta$ -グルカン換算で1～40質量%含有し、かつ前記乳酸菌の加熱処理菌体を4～95質量%含有することが好ましい。この態様によれば、より保湿効果の持続性に優れた皮膚用保湿剤を得ることができる。

#### 【0017】

更に、前記 $\beta$ -グルカンを含有する素材は、アウレオバシジウム属 (Aureobasidium sp.) に属する菌、担子菌の子実体、担子菌の菌糸体から選ばれた少なくとも1種より調製されたものであることが好ましい。この態様によれば、 $\beta$ -グルカンを簡便に調製することができる。

#### 【0018】

更にまた、前記 $\beta$ -グルカンを含有する素材は、アウレオバシジウム プルランス M-1 (Aureobasidium pullulans M-1) (FERM P-19213) を培養して得られる培養物であることが好ましい。この態様によれば、 $\beta$ -1, 3-1, 6-グルカンをより簡単に調製することができる。

#### 【0019】

更にまた、前記乳酸菌はエンテロコッカス・フェカリス (Enterococcus faecalis) であることが好ましい。この態様によれば、エンテロコッカス・フェカリスは、ラクトバチルスやビフィズス菌等の他の乳酸菌に比べて、菌体の大きさが小さいため、添加質量当たりの菌体数が多くなり、効率よく保湿効果を高めることができる。



## 【0020】

## 【発明の実施の形態】

本発明において $\beta$ -グルカンとは、グルコースから構成される多糖類のうち、グルコースが $\beta$ 型の構造で結合したものをいい、 $\beta$ -1, 3-グルカン、 $\beta$ -1, 6-グルカン、 $\beta$ -1, 3-1, 6-グルカン等が例示できる。好ましくは $\beta$ -1, 3-1, 6-グルカンが例示でき、特に好ましくはグルコースが $\beta$ -1, 3結合した主鎖から $\beta$ -1, 6結合でグルコースが分岐した構造を有するグルカンが例示できる。 $\beta$ -1, 3-1, 6-グルカンは、抗アレルギー作用、抗炎症作用等の様々な生理活性を有していることが知られており、保湿効果以外にも、例えば、アトピー性皮膚炎等のアレルギー症状の低減効果も期待できる。

## 【0021】

本発明において用いられる $\beta$ -グルカンを含有する素材としては、上記のような $\beta$ -グルカンを1種又は2種以上含有する素材であれば特に制限なく用いることができる。例えば、アウレオバシジウム属 (Aureobasidium sp.) に属する菌、担子菌の子実体、担子菌の菌糸体等の細胞壁や培養物等には、上記のような $\beta$ -グルカンが多く含まれており、これらから調製されたものが好ましく用いられる。

## 【0022】

本発明において、アウレオバシジウム属 (Aureobasidium sp.) に属する菌としては、例えば、特開昭57-149301号公報、特公平5-4063号公報、特開2002-335926号公報等に記載された菌株を用いることができるが、アウレオバシジウム プルランス M-1 (Aureobasidium pullulans M-1、独立行政法人産業技術総合研究所特許生物寄託センター寄託番号FERM P-19213) が好ましく用いられる。これらのアウレオバシジウム属 (Aureobasidium sp.) に属する菌の細胞壁や該菌を培養して得られる培養物には、 $\beta$ -1, 3-1, 6-グルカンを主成分とする $\beta$ -グルカンが含まれている。

## 【0023】

アウレオバシジウム属 (Aureobasidium sp.) に属する菌から $\beta$ -1, 3-1, 6-グルカンを主成分とする $\beta$ -グルカンを調製する方法は、公知の方法（特

開昭57-149301号公報等参照)に準じて行うことができる。すなわち、炭素源(ショ糖)0.5~1.0質量%、N源0.1質量%、その他の微量物質(例えば、ビタミン類、無機質)を加えた培地(pH5.2~6.0)に菌を接種し、温度20~30℃で2~3日間通気培養、好ましくは通気攪拌培養すればよい。 $\beta$ -1, 3-1, 6-グルカンが生成されるにしたがって培養液の粘度が上昇し、粘性の高いジェル状になる。このようにして得られる培養液には、通常、0.6~1.8質量%の固形分が含まれており、該固形分中には $\beta$ -1, 3-1, 6-グルカンが5~80質量%含まれている。

#### 【0024】

本発明においては、上記培養液中に含まれる $\beta$ -グルカンを、エタノール沈殿等の公知の方法により精製してもよいが、培養液をそのまま用いるほうが好ましい。上記培養液には、 $\beta$ -グルカンだけでなく、例えば、 $\beta$ -グルカンの吸収を助ける成分であるリン、カリウム、マグネシウム、ビタミンC、オレイン酸、リノール酸等の他の有用成分も含まれており、 $\beta$ -グルカンの有する他の生理活性効果も期待できる。

#### 【0025】

上記培養液をそのまま用いる場合は、培養液を必要に応じて適宜濃縮した後、加熱又は加圧加熱殺菌して用いてもよく、遠心分離等により菌体を分離除去した後殺菌して用いてもよい。本発明においては、固形分中に $\beta$ -1, 3-1, 6-グルカンを好ましくは1質量%以上、より好ましくは5質量%以上含む培養液が用いられる。なお、アウレオバシジウム属(*Aureobasidium* sp.)に属する菌の培養物は、増粘安定剤等の食品添加物として使用されているものであり、安全性は高い。

#### 【0026】

また、上記担子菌としては、例えば、アガリクス・ブラゼイ・ムリル(*Agaricus blazei* Murill)、メシマコブ、霊芝、ヤマブシタケ、スエヒロタケ、シイタケ等が好ましく挙げられる。これらの担子菌は、従来より食品として摂取されているものであり、容易に入手でき、安全性も非常に高い。

#### 【0027】

上記担子菌の子実体、担子菌の菌糸体等から  $\beta$ -1, 3-1, 6-グルカン为主成分とする  $\beta$ -グルカンを調製する方法は、特に制限はなく、熱水抽出、アルコール等の有機溶媒抽出、酵素分解等の公知の方法で行うことができる。例えば、生あるいは乾燥したアガリクス・ブラゼイ・ムリルの子実体や、アガリクス・ブラゼイ・ムリルの種菌を炭素源及び窒素源を含む培地で培養して得られる菌糸体培養物を、水、アルコール等の溶媒で抽出することにより調製することができる。具体的には、例えば、乾燥したアガリクス・ブラゼイ・ムリルの子実体に、その質量の約 20 倍量の水を加えて 120℃で 30 分間抽出すればよい。このようにして得られる抽出液は、そのまま用いてもよいが、固形分中に  $\beta$ -1, 3-1, 6-グルカン 10 質量%含有するように、必要に応じて精製してから用いることが好ましい。なお、上記担子菌の子実体、担子菌の菌糸体等からの抽出物は市販されており、これらを用いることもできる。

#### 【0028】

なお、上記アウレオバシジウム属 (*Aureobasidium* sp.) に属する菌の培養物や上記担子菌の子実体等の抽出物に含まれる  $\beta$ -1, 3-1, 6-グルカンの定量は、特公平 3-48201 号公報に記載された方法に準じて行うことができる。すなわち、培養終了後、培養液を殺菌して、遠心分離して菌体を除去した溶液、あるいは上記担子菌の子実体、担子菌の菌糸体等の抽出液に、クロロホルム／ブタノール混合液を 10% 加えて振とう (Sevage 法) した後、遠心処理してクロロホルムと不溶物を除去する。この操作を 2 回繰り返した後、エタノール沈殿により、沈殿物を回収して蒸留水に溶解し、酵素処理により、プルランを分解し、蒸留水中で透析を行い、透析液をエタノール沈殿して、沈殿物 ( $\beta$ -1, 3-1, 6-グルカン) を回収して収量を求めればよい。

#### 【0029】

また、本発明において、乳酸菌の加熱処理菌体とは、乳酸菌を加熱処理して得られる死菌体である。この乳酸菌の加熱処理菌体は、例えば、乳酸菌を、ロゴサ培地にて 30～45℃、12～72 時間培養し、遠心分離等の適当な手段で菌体を分離、回収して水洗、濃縮し、80～115℃、30 分～3 秒間加熱処理した後、噴霧乾燥、凍結乾燥等の適当な手段によって乾燥することにより得ることが

できる。

### 【0030】

上記乳酸菌としては、エンテロコッカス・フェカリス (Enterococcus faecalis)、エンテロコッカス・フェシウム (Enterococcus faecium)、ラクトバチルス・アシドフィルス (Lactobacillus acidophilus)、ラクトバチルス・カゼイ (Lactobacillus casei)、ストレプトコッカス・クレモリス (Streptococcus cremoris)、ストレプトコッカス・ラクティス (Streptococcus lactis)、ストレプトコッカス・サーモフィラス (Streptococcus thermophilus)、ビフィドバクテリウム・ロンガム (Bifidobacterium Longum)、ビフィドバクテリウム・ブレーベ (Bifidobacterium breve)、ビフィドバクテリウム・ビフィダム (Bifidobacterium bifidum) 等が例示できる。上記乳酸菌は単独で用いてもよく、2種以上を併用してもよい。

### 【0031】

なお、エンテロコッカス・フェカリス (Enterococcus faecalis)、エンテロコッカス・フェシウム (Enterococcus faecium) は乳酸菌製剤等に用いられている乳酸菌である。ラクトバチルス・カゼイ (Lactobacillus casei)、ラクトバチルス・アシドフィルス (Lactobacillus acidophilus) は、チーズ、発酵乳、ヨーグルト、乳酸菌飲料等に用いられている乳酸菌である。ストレプトコッカス・クレモリス (Streptococcus cremoris)、ストレプトコッカス・ラクティス (Streptococcus lactis)、ストレプトコッカス・サーモフィラス (Streptococcus thermophilus) は、チーズ、ヨーグルト等に用いられている乳酸菌である。ビフィドバクテリウム・ロンガム (Bifidobacterium Longum)、ビフィドバクテリウム・ブレーベ (Bifidobacterium breve)、ビフィドバクテリウム・ビフィダム (Bifidobacterium bifidum) は発酵乳等に用いられている乳酸菌である。したがって、これらの乳酸菌は、いずれも当業者が容易に入手できるものである。

### 【0032】

本発明においては、上記の乳酸菌の中でも、エンテロコッカス・フェカリス (Enterococcus faecalis、例えば、ATCC 19433、ATCC 14508、ATCC 123655、IFO 16803等) が好ましく用いられる。エンテロコッカス・フェカリス (Enterococcus

*s faecalis*) は、ラクトバチルスやビフィズス菌等の他の乳酸菌に比べて、菌体の大きさが小さいため、添加質量当たりの菌体数が多くなり、効率よく保湿効果を高めることができる。また、この乳酸菌は、耐塩性が高く、高濃度で培養が可能であるため、低コストで高い収量が得られる。

#### 【0033】

本発明の皮膚用保湿剤は、例えば、菌体を除去せずに、あるいは菌体を除去した後殺菌したアウレオバシジウム属 (*Aureobasidium* sp.) に属する菌の培養液や、上記担子菌の子実体等の抽出液に、乳酸菌の加熱処理菌体粉末を混合して、均一に分散させることにより得ることができる。なお、必要に応じて上記成分以外に、グリセリン、ヒアルロン酸、トレハロース、リポソーム等を含むことができる。

#### 【0034】

本発明の皮膚用保湿剤は、固形分中に、上記  $\beta$ -グルカンを含有する素材を  $\beta$ -グルカン (好ましくは  $\beta$ -1, 3-1, 6-グルカン) 換算で 1~40 質量% 含有し、かつ上記乳酸菌の加熱処理菌体を 4~95 質量% 含有することが好ましく、上記  $\beta$ -グルカンを含有する素材を  $\beta$ -グルカン換算で 2~40 質量% 含有し、かつ上記乳酸菌の加熱処理菌体を 10~95 質量% 含有することがより好ましく、上記  $\beta$ -グルカンを含有する素材を  $\beta$ -グルカン換算で 3~40 質量% 含有し、かつ上記乳酸菌の加熱処理菌体を 30~95 質量% 含有することが特に好ましい。 $\beta$ -グルカンを含有する素材の配合量が少なすぎると十分な保湿効果が得られず、多すぎると製品の流動性 (のびやすさ) が低下し、使用感が低下する。また、乳酸菌の加熱処理菌体の配合量が少なすぎると十分な保湿効果の持続性が得られず、多すぎると製品中での分散性が低下し、均一な製品を得ることができない。

#### 【0035】

なお、上記  $\beta$ -グルカンを含有する素材と、上記乳酸菌の加熱処理菌体とを併用することにより、保湿効果の持続性が向上する理由は明確には分らないが、例えば、乳酸菌の加熱処理菌体が担体となって、 $\beta$ -グルカンや水分を保持していることが考えられる。

## 【0036】

本発明の皮膚用保湿剤は、そのまま化粧水や化粧液として用いてもよく、各種皮膚用化粧品（例えば、乳液、クリーム、パック等）に配合して用いてもよい。該皮膚用保湿剤の皮膚用化粧品への配合量は、0.5～50質量%が好ましく、5～20質量%がより好ましい。

## 【0037】

## 【実施例】

以下、実施例を挙げて本発明を具体的に説明する。なお、以下の説明において、特に断りのない限り、「%」は「質量%」を表す。

## 【0038】

## 実施例

## (1) アウレオバシジウムの培養

アウレオバシジウム プルランス M-1 (Aureobasidium pullulans M-1) (FERM P-19213) の前培養液を、ショ糖1%、アスコルビン酸0.2%、米糠0.2%を含む液体培地 (pH 5.3) に適量接種して、25℃、2日間、通気攪拌培養を行った。培養終了後、この培養液を121℃、15分間殺菌した。この培養液は固形分1質量%であり、該固形分中に35質量%の $\beta$ -1, 3-1, 6-グルカンを含んでいた。

## 【0039】

(2) エンテロコッカス・フェカリス (Enterococcus faecalis) の培養

エンテロコッカス・フェカリス (Enterococcus faecalis, IF0 16803) を、ロゴサ培地で37℃、24時間培養した前培養液を、酵母エキス4%、ポリペプトン3%、乳糖10%を含む液体培地に適量接種し、pHスタットを用いてpH 6.8～7.0に苛性ソーダ水溶液で調整しながら37℃、22～24時間中和培養を行った。

## 【0040】

培養終了後、連続遠心機で菌体を分離、回収した後、水を加えて元の液量まで希釈して再度連続遠心機で菌体を分離、回収した。この操作を合計4回繰り返して菌体を洗浄した。次いで、洗浄した菌体を適量の水に懸濁し、100℃、30

分間殺菌した後、スプレードライヤーを用いて菌体を乾燥して加熱処理菌体粉末を調製した。

#### 【0041】

##### (3) 保湿効果の確認

上記(1)で得られたアウレオバシジウム培養液及び上記(2)で得られたエンテロコッカス・フェカリスの加熱処理菌体粉末を用いて、下記に示す被験サンプルを調製し、5名の女性ボランティア(20代2名、30代、40代、50代各1名)による保湿効果の確認試験を行った。

#### 【0042】

##### ・被験サンプル

- 1: アウレオバシジウム培養液のみ
- 2: エンテロコッカス・フェカリス加熱処理菌体1%水懸濁液
- 3: エンテロコッカス・フェカリス加熱処理菌体1%含有アウレオバシジウム培養液
- 4: 水(対照)

各被験者は、測定部位(前腕内側屈曲部より5cm下の幅3cm×長さ10cmの範囲)を石鹸で洗浄した後、温度18～20℃、湿度50～55%に調整された恒温恒湿条件下の室内で20分間安静にしてもらった。そして、上記測定部位を4つに区分けし、各区に上記被験サンプル1～4をそれぞれ10 $\mu$ l塗布した後、表皮角質層水分量(皮表コンダクタンス $\mu$ S)を、高周波インピーダンス法を応用した表皮角質層水分量測定装置「SKINCON-200」(商品名、アイ・ビー・エス株式会社製)を用いて各区を経時的に測定した。なお、表皮角質層水分量の測定は、被験サンプル塗布5分前(-5分)、塗布直後(0分)、塗布後10、20、30、60分に行った。その結果を図1～5に示す。なお、図1～5において、1～4はそれぞれ被験サンプル1～4に対応する。

#### 【0043】

図1～5から、被験サンプル3を塗布した場合、被験サンプル1、2に比べて、塗布後時間が経過しても、表皮角質層水分量が高く維持されており、保湿効果が持続していることが分かる。また、被験者に使用感をアンケートしたところ、

べたつきや油っぽさもなく、使用感もよいとのことであった。

#### 【0044】

##### 【発明の効果】

以上説明したように本発明によれば、 $\beta$ -グルカンを含有する素材と、乳酸菌の加熱処理菌体とを有効成分として含有させることにより、保湿効果の持続性や使用感に優れ、かつ安全性の高い皮膚用保湿剤を提供することができる。

#### 【0045】

この皮膚用保湿剤は、そのまま化粧水や化粧液として用いることもでき、各種皮膚用化粧品に配合して用いることもできる。

##### 【図面の簡単な説明】

【図1】 被験者1（20代女性）における表皮角質層水分量（皮表コンダクタンス $\mu S$ ）の経時的変化を測定した結果を示す図である。

【図2】 被験者2（20代女性）における表皮角質層水分量（皮表コンダクタンス $\mu S$ ）の経時的変化を測定した結果を示す図である。

【図3】 被験者3（30代女性）における表皮角質層水分量（皮表コンダクタンス $\mu S$ ）の経時的変化を測定した結果を示す図である。

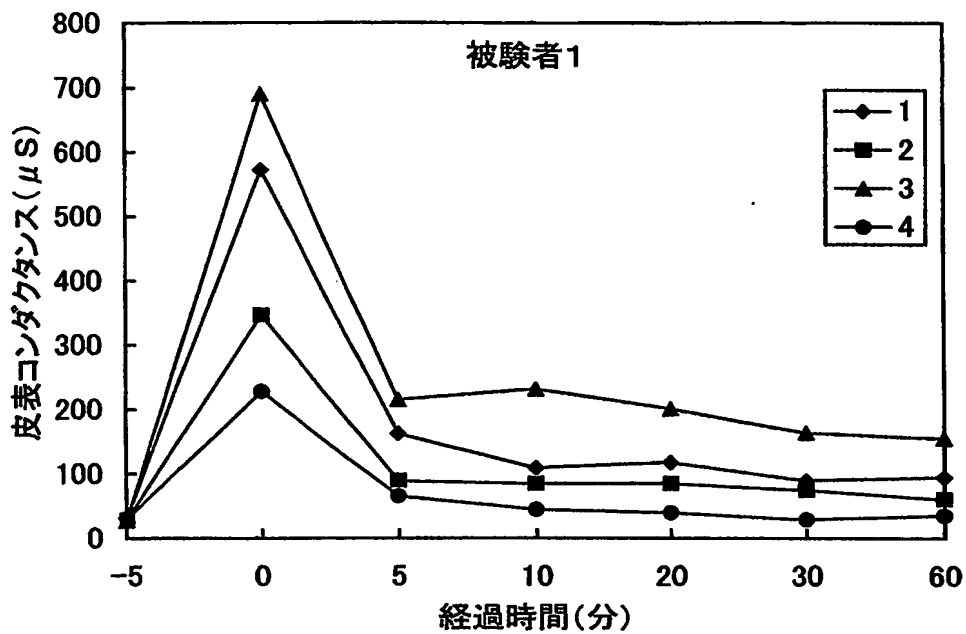
【図4】 被験者4（40代女性）における表皮角質層水分量（皮表コンダクタンス $\mu S$ ）の経時的変化を測定した結果を示す図である。

【図5】 被験者5（50代女性）における表皮角質層水分量（皮表コンダクタンス $\mu S$ ）の経時的変化を測定した結果を示す図である。

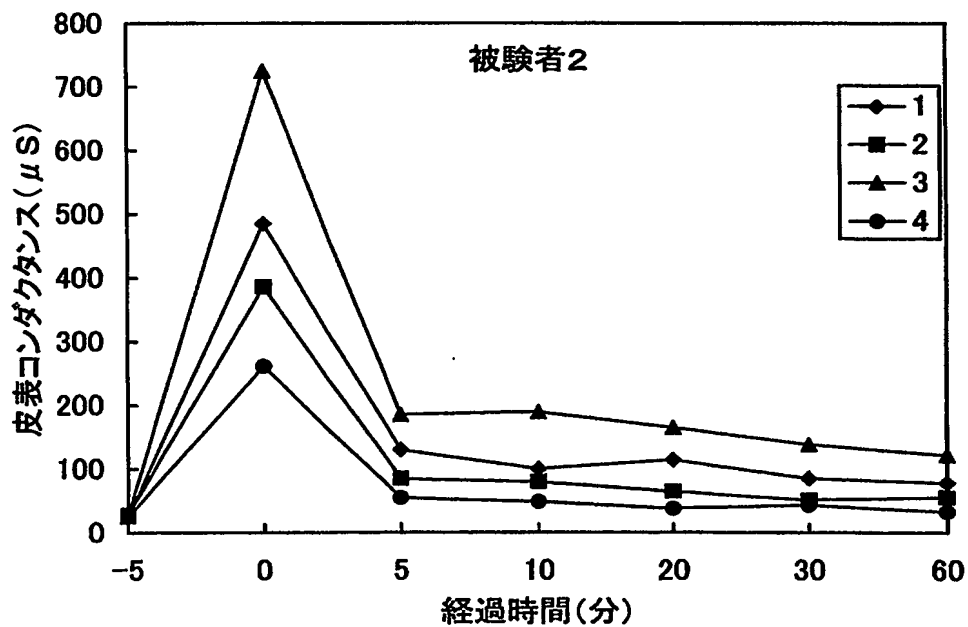


【書類名】 図面

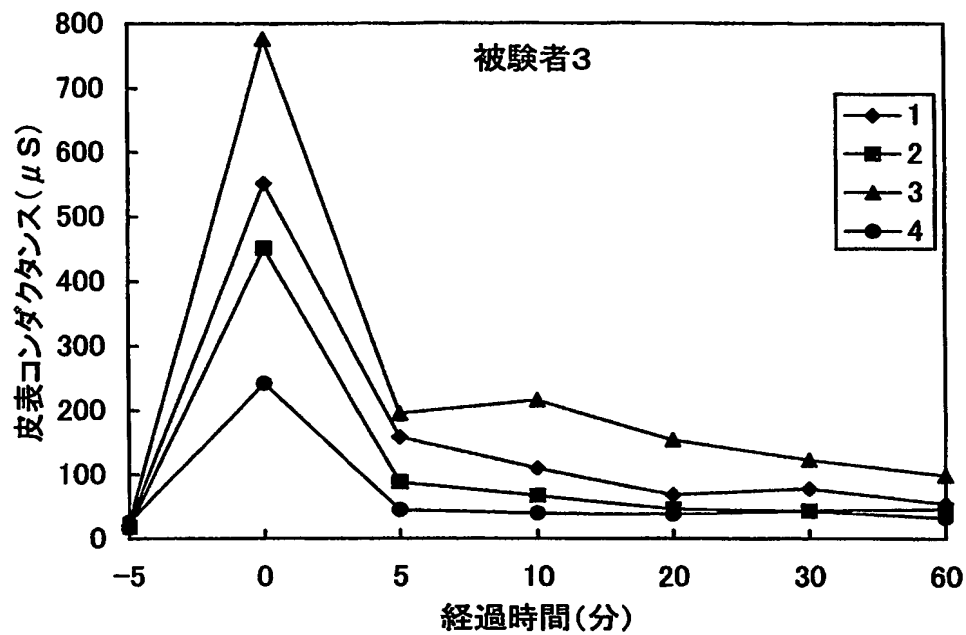
【図 1】



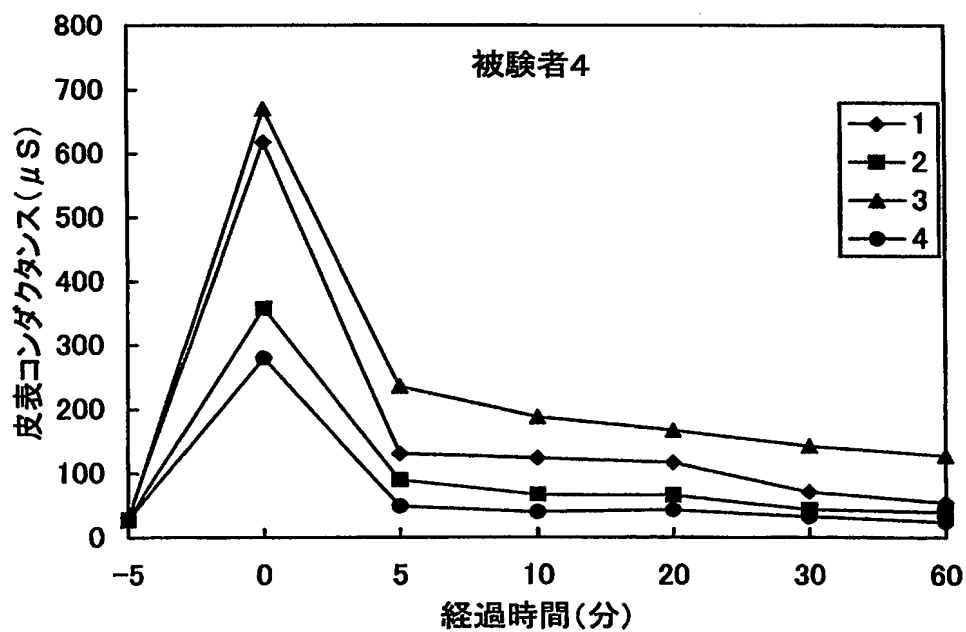
【図 2】



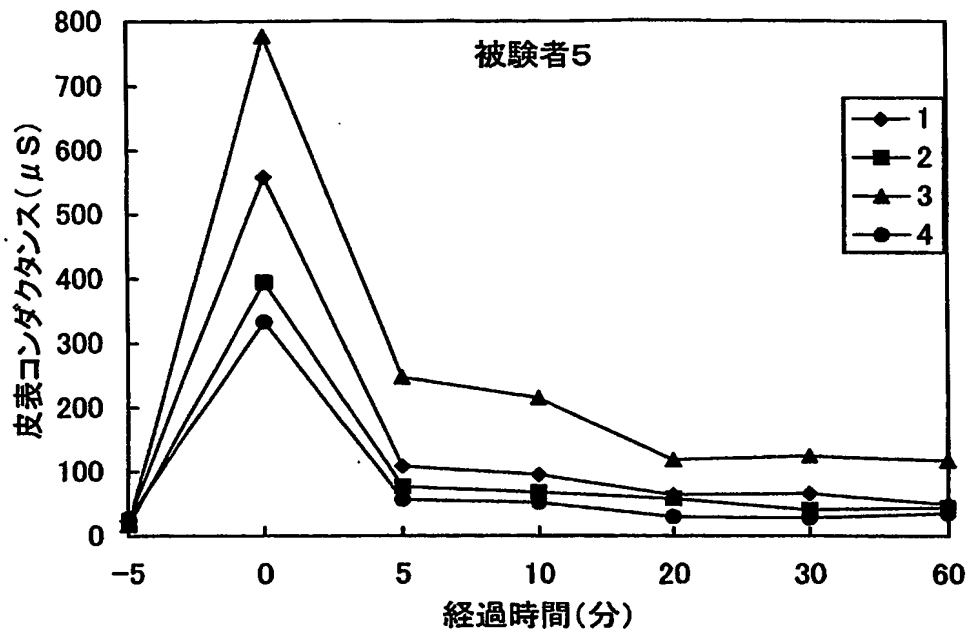
【図 3】



【図 4】



【図 5】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 保湿効果の持続性や使用感に優れ、かつ安全性の高い皮膚用保湿剤を提供する。

【解決手段】 皮膚用保湿剤の有効成分として、 $\beta$ -グルカン含有する素材と、乳酸菌の加熱処理菌体とを含有させる。前記 $\beta$ -グルカンは $\beta$ -1, 3-1, 6-グルカンであることが好ましく、固形分中に、前記 $\beta$ -グルカン含有する素材を $\beta$ -グルカン換算で1~40質量%、前記乳酸菌の加熱処理菌体を4~95質量%含有することが好ましい。また、前記 $\beta$ -グルカン含有する素材はアウレオバシジウム属に属する菌、担子菌の子実体、担子菌の菌糸体から選ばれた少なくとも1種より調製されたものであることが好ましい。更に、前記 $\beta$ -グルカン含有する素材はアウレオバシジウム プルランス M-1 (FERM P-19213) を培養して得られる培養物であることが好ましく、前記乳酸菌はエンテロコッカス・フェカリスであることが好ましい。

【選択図】 なし

特願 2003-061382

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [500035971]

1. 変更年月日 2003年12月 5日  
[変更理由] 識別番号の二重登録による抹消  
[統合先識別番号] 501257370  
住 所 東京都港区白金台二丁目7番7号  
氏 名 株式会社アウレオ

特願 2 0 0 3 - 0 6 1 3 8 2

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [ 5 0 1 2 5 7 3 7 0 ]

1. 変更年月日 2 0 0 3 年 1 2 月 5 日  
[変更理由] 識別番号の二重登録による統合  
[統合元識別番号] 5 0 0 0 3 5 9 7 1  
住 所 東京都港区白金台二丁目 7 番 7 号  
氏 名 株式会社アウレオ